

土壤硝态氮含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：AC10075

规格：50T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×2 瓶	4℃保存
试剂二	液体 100 mL×1 瓶	4℃保存
标准品	粉剂×1 支	4℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂一：临用前根据用量每瓶加 2 mL 浓硫酸充分溶解。
- 2、标准品：10 mg 硝酸钾。临用前加入 1.386 mL 蒸馏水溶解，配成 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 标准液。

产品说明：

硝态氮是指硝酸盐中所含有的氮元素，土壤中硝态氮是高等植物吸收氮的主要形式之一，其含量直接关系到作物的产量与品质。

在浓酸条件下， $\text{NO}_3\text{-}$ 与水杨酸反应生成硝基水杨酸，在碱性条件下（ $\text{PH}>12$ ）呈黄色，其颜色深浅与含量成正比，即可计算得硝态氮含量。

技术指标：

最低检出限：0.0495 $\mu\text{g}/\text{mL}$

线性范围：0.1953125-80 $\mu\text{g}/\text{mL}$

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、1mL 玻璃比色皿、可调式移液枪、振荡器、浓硫酸、蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

按照土壤质量（g）：蒸馏水体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 土样，加入 1mL 蒸馏水），振荡提取 1h，10000g，25℃离心 10min，取上清液待测。（最好使用新鲜未风干的土样）

二、测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 410nm，蒸馏水调零。
- 2、将 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ $\text{NO}_3\text{-N}$ 标准液用蒸馏水 40 倍稀释成 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液。
- 3、操作表：

试剂名称	测定管	标准管	空白管
样本 (μL)	40		
标准溶液 (μL)		40	
蒸馏水 (μL)			40
试剂一 (μL)	60	60	60
充分混匀, 25°C静置 30min			
试剂二 (μL)	1400	1400	1400
混匀, 涡旋振荡, 使出现的沉淀充分溶解, 取 1mL 于 1mL 玻璃比色皿中测定 410nm 处吸光值 A, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。			

三、NO₃⁻-N 含量的计算

$$\text{NO}_3\text{-N 含量} (\mu\text{g/g 土样}) = \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times V_{\text{提取}} \div W = 25 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

W: 样本质量, g; C 标准: 标准溶液浓度, 25μg/mL; V 提取: 提取液体积, 1mL。

注意事项:

- 1、土壤胶体不吸附硝酸根离子, 且其易溶于水, 在土壤内部移动, 所以测定多个样本或者重复样本室注意保持相同的采样深度。
- 2、土壤经风干或者烘干很容易引起硝态氮含量的变化, 所以建议采用新鲜土壤进行测定。样品采集后应于 4°C 下密封运输和保存, 并在 3d 内分析完毕。否则, 应于 -20°C (深度冷冻) 下以小块、小份保存, 样品中硝酸盐氮可以保存数周。当测定深度冷冻的硝酸盐氮含量时, 应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时, 需在 4 h 内完成样品解冻、匀质化和提取; 如果在 4°C 下解冻, 解冻时间不应超过 48 h。
- 3、如果要比较不同样本间的硝态氮含量, 需将土样烘干后按干重计算后再进行比较。
- 4、试剂一配制好后尽快使用, 4°C 可保存一周。
- 5、试剂一和试剂二均具有强腐蚀性, 操作时需做好防护措施。
- 6、如果吸光值大于 1.5, 建议将样本用蒸馏水稀释后再进行测定。

实验实例:

- 1、取 0.1g 土样加入 1mL 蒸馏水震荡提取 1h, 离心取上清之后按照测定步骤操作, 测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.192 - 0.005 = 0.187$, $\Delta A_{\text{标准}} = 0.580 - 0.005 = 0.575$, 按土壤质量计算 NO₃⁻-N 含量得:
 $\text{NO}_3\text{-N 含量} (\mu\text{g/g 土样}) = 25 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 25 \times 0.187 \div 0.575 \div 0.1 = 81.3 \mu\text{g/g 土样}$ 。
- 2、取 0.1g 林土加入 1mL 蒸馏水震荡提取 1h, 离心取上清之后按照测定步骤操作, 测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.146 - 0.005 = 0.141$, $\Delta A_{\text{标准}} = 0.580 - 0.005 = 0.575$, 按土壤质量计算 NO₃⁻-N 含量得:
 $\text{NO}_3\text{-N 含量} (\mu\text{g/g 土样}) = 25 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 25 \times 0.141 \div 0.575 \div 0.1 = 61.3 \mu\text{g/g 土样}$ 。

参考文献:

- [1] Vendrell P F, Zupancic J. Determination of soil nitrate by transnitration of salicylic acid[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 1990, 21(13-16): 1705-1713.
- [2] Cataldo D A, Maroon M, Schrader L E, et al. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid[J]. Communications in soil science and plant analysis, 1975, 6(1): 71-80.